Beiträge zur Kenntnis der Samenentwicklung einiger europäischer Hypericum-Arten

von

Dr. Karl Schnarf.

(Mit 4 Tafeln.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 19. Februar 1914.)

Einleitung.

Den Anlaß zu den Studien, über deren Ergebnisse im folgenden berichtet wird, bot die Tatsache, daß die Samenentwicklung der Gattung *Hypericum*, soweit mir bekannt ist, weder in der älteren noch in der neueren Literatur behandelt wird.

Als Material benutzte ich die ganz gemein vorkommenden mitteleuropäischen Arten: *Hypericum perforatum* L. und *H. maculatum* Cr. und das südeuropäische *H. calycinum* L. Die beiden ersten Arten wurden in der Umgebung von Iglau in Mähren, die letztgenannte im botanischen Garten der Universität Wien gesammelt.

Zur Fixierung, die an Ort und Stelle erfolgte, diente Bonner Gemisch (schwächere Lösung), ferner ein Gemisch von absolutem Alkohol und Eisessig im Verhältnis 3 zu 1 und absoluter Alkohol. Das beste Resultat erzielte ich mit dem Alkohol-Eisessiggemisch, wenn ich es im Wasserbad von zirka 70° Celsius erwärmte.

Die angewendete Schnittdicke betrug 3 und 5 μ bei den jüngeren und 7 und 10 μ bei den älteren Stadien. Zur Färbung diente nebst dem Bonner Dreifarbengemisch besonders Eisenhämatoxylin nach Heidenhein.

Da eine flüchtige Voruntersuchung mir besonders die Untersuchung späterer Stadien nahezulegen schien, richtete ich zunächst auf diese mein Augenmerk. Die auf diese Weise sich ergebende Ungleichheit in der Behandlung verschiedenaltriger Stadien hoffe ich in einer weiteren Arbeit ausgleichen zu können.

Entwicklung der Samenanlage bis zur Befruchtung.

Im folgenden seien zunächst die ersten Entwicklungsstufen der Samenanlage besprochen. Es muß jedoch vorausgeschickt werden, daß mir diesbezüglich keine völlig geschlossene Reihe vorliegt. Zu einer exakten Darstellung gehörten insbesondere noch die hauptsächlichsten Teilungsstadien, vor allem der Nachweis der Reduktionsteilung und in dieser Hinsicht erwies sich leider das von mir fixierte Material wenig günstig. Wenn ich trotzdem meine diesbezüglichen Beobachtungen vorlege, so geschieht es, weil ja doch in der Hauptsache der Entwicklungsgang klargelegt erscheint und eine Einzelheit einige Beachtung verdienen dürfte. Es sei übrigens hervorgehoben, daß eine exakte Erforschung der ersten Stadien des weiblichen Gametophyten großer Schwierigkeit unterliegen dürfte wegen der Kleinheit der in Betracht kommenden Zellkerne. Die Zahl der Chromosomen ist sicher relativ groß und diese selbst sind sehr klein.

Die Fig. 1 bis 3 zeigen einige junge Stadien der Samenanlagen von *H. perforatum.* In Fig. 1 ist bereits die Tendenz, die Samenanlage anatrop zu gestalten, deutlich wahrzunehmen, aber noch keine Spur eines Integumentes vorhanden. In Fig. 2 ist schon die erste Anlage des inneren Integumentes festzustellen. Die große, subepidermale Zelle, die ich in derselben Ausbildung wiederholt finden konnte, möchte ich als Archesporzelle und, da ich niemals über ihr Tapetumzellen finden konnte, auch zugleich als Sporenmutterzelle deuten.

Fig. 3 zeigt die Anlage des inneren Integumentes deutlicher. An Stelle einer großen Sporenmutterzelle finden wir hier eine aus vier Zellen bestehende Zellreihe, die jedenfalls durch Teilung einer einzigen Zelle entstanden und als Tetradenreihe zu betrachten ist. Die Herausdifferenzierung des Embryosackes

hat noch nicht stattgefunden; sie scheint bei *H. perforatum* überhaupt relativ spät einzutreten.

Die Fig. 4 und 5 zeigen ein wenig weiter vorgeschrittene Stadien von *H. maculatum*. Bei beiden ist auch schon das äußere Integument entwickelt. Fig. 4 zeigt gegenüber Fig. 3 zunächst den Unterschied, daß nur drei Tetradenzellen übereinanderliegen, und ferner, daß neben dieser Reihe noch eine schmale, langgestreckte Zelle auftritt. Beide Eigentümlichkeiten fand ich bei *H. maculatum* häufiger als bei *perforatum*. Die bestimmte Ansicht, daß da etwa ein Artunterschied vorliege, könnte aber erst auf Grund eines größeren Materials ausgesprochen werden.

Fig. 5 zeigt in der zentralen Zellreihe des Nucellus die unterste Tetradenzelle bedeutend gefördert; es ist jedenfalls diejenige Zelle, die später zum Embryosacke wird.

Ein weiter vorgeschrittenes Stadium von *H. perforatum* führt Fig. 6 vor. Das innere Integument ist über den Nucellus emporgewachsen und das äußere wächst noch über das innere hinüber. Der Nucellus zeigt unter der Epidermis eine einzige Reihe von Zellen, deren vier oberste wohl als die Megasporen zu betrachten sind.

Ähnliche Verhältnisse treffen wir auch an der in Fig. 7 abgebildeten Samenanlage an. Die Verkleinerung der Mikropyle durch weiteres Wachstum der Integumente ist hier noch mehr vorgeschritten. Auch die den Nucellus aufbauenden Zellen haben zum Teil eine auffallende Veränderung erfahren. Die Epidermiszellen, insbesondere die an der Spitze des Nucellus, haben sich stark in die Länge gestreckt und eine derselben zeigt einen auffallend vergrößerten Zellkern. Gleichzeitig sehen wir, daß sich die oberste Zelle der zentralen Zellreihe ebenfalls stark in die Länge gestreckt hat, aber einen ganz kleinen Zellkern aufweist, welcher meines Erachtens schon das erste Anzeichen der beginnenden Desorganisation der Zelle zeigt. In der Tat findet man diese Zelle in ein wenig älteren Stadien vollständig abgestorben und sie erscheint dann als langgestreckter, strukturloser Streifen, welcher die für solche abgestorbene Zellen charakteristische Farbstoffspeicherung aufweist. Ein ähnliches Stadium führt Fig. 8 vor; es ist nur die

obere Partie des Nucellus mit den angedeuteten Umrissen des inneren Integumentes dargestellt. Auch hier sehen wir eine solche vergrößerte Epidermiszelle, in deren Plasma große Vakuolen entstanden sind und deren Zellkern und Nucleolus eine bedeutende Vergrößerung aufweisen.

Da ich ähnliche Bilder ganz regelmäßig in meinen Schnittserien von gleicher Entwicklungsstufe gefunden habe, bin ich geneigt, dieser Veränderung der Epidermiszellen des Nucellus eine ganz bestimmte Funktion zuzuschreiben. Bevor ich jedoch meine diesbezügliche Auffassung darlege, möchte ich ergänzend bemerken, daß diese Veränderung der Zellen an der Spitze des Nucellus am deutlichsten ist und zuerst auftritt, aber nach und nach etwas gegen die Basis zu fortschreitet.

Nach meiner Ansicht fungieren nun die Epidermiszellen des jungen Nucellus in diesem Stadium, also, wie wir gleich sehen werden, kurz vor ihrem Zugrundegehen, als eine Art Schwellkörper. Da der Nucellus von den Integumenten fest umschlossen ist, der sich entwickelnde Embryosack aber größeren Raum beansprucht, müssen irgendwelche Einrichtungen getroffen sein, welche den notwendigen Platz schaffen. Diese an den Fig. 6 bis 8 besprochene Vergrößerung, welche die Epidermiszellen an der Spitze des Nucellus aufweisen, während die übrigen Zellen noch eine ganz meristemartige Beschaffenheit haben, muß eine gewaltsame Erweiterung des Raumes innerhalb des inneren Integumentes zur Folge haben. Man könnte diese Nucellusspitze bis zu einem gewissen Grade mit der im Boden vordringenden Wurzelspitze vergleichen, mit dem einen Unterschied, daß bei dieser durch lebhafte Zellteilungen der zum Vordringen notwendige Druck zustande kommt, während es sich in unserem Falle um ein Auswachsen einzelner Zellen handelt.

Als Stütze für die vorgebrachte Deutung dient vor allem die Beschaffenheit der Zellen. Die »Schwellkörperzellen« zeigen nämlich innerhalb des wandständigen Plasmas einen großen Saftraum und vor allem einen großen Zellkern mit einem sehr bedeutenden Nucleolus. Ein solcher Zellkern ist aber in einer Zelle, die, wie wir später sehen werden, denn doch dem Untergang geweiht ist, sehr auffällig und deutet darauf hin, daß er in ganz

besonderer Weise aktiv ist. Nach der ganzen Situation möchte ich seine Funktion darin erblicken, daß er an der Erzeugung osmotisch wirksamer Stoffe beteiligt ist, welche den Turgor der Zelle erhöhen. Daß aber diese Schwellkörperzellen großen Turgor besitzen, glaube ich aus einer wiederholt gemachten Beobachtung schließen zu können.

Fig. 9 *a* zeigt einen nicht ganz median geführten Schnitt durch eine Samenanlage, die derselben Serie wie Fig. 6 bis 8 angehört. Der benachbarte mediane Schnitt (vgl. Fig. 9 *b*) sieht so aus wie Fig. 8. Unser Schnitt hat also den Nucellus gestreift, so daß nur ein Teil von dessen Epidermis zu sehen ist. Eine Zelle derselben, die unter der Spitze liegt, hat sich bedeutend vergrößert und zeigt ganz den Charakter einer Schwellkörperzelle. In unserem Schnitte sieht man aber oberhalb derselben zunächst eine stark tingierte Masse und diese steht in direktem Zusammenhang mit einer leeren Membran, die bis in Zwischenraum zwischen innerem und äußerem Integument hinein zu verfolgen ist. Das ganze Gebilde ist, wie aus dem Vergleich mit den Nachbarschnitten hervorgeht, zweifellos eine Epidermiszelle, welche sich bedeutend vergrößert und sich in den freien Raum zwischen innerem und äußerem Integument (bei *) hineingezwängt hat, hernach aber zugrunde gegangen ist, während eine tiefer gelegene »Schwellkörperzelle« noch in voller Tätigkeit ist.

Dieses Herausquellen der »Schwellkörperzellen« aus der Öffnung des inneren Integumentes ist eine Erscheinung, die ich bei *H. perforatum* außerordentlich häufig beobachtet habe, und ist mir ein unzweideutiger Beleg dafür, daß die Schwellkörperzellen tatsächlich große Turgeszenz besitzen.

Zusammenfassend glaube ich also sagen zu dürfen, daß die Epidermiszellen am Ende des Nucellus sich, kurz bevor sie zugrunde gehen, bedeutend vergrößern und einen großen »aktiven« Zellkern aufweisen. Ich halte es für wahrscheinlich, daß diese Zellen zu dieser Zeit als eine Art Schwellkörper dienen, der den engen Raum innerhalb der Integumente erweitert und für die Ausbildung des Embryosackes den notwendigen Platz schafft. Leider ist es mir nicht

gelungen, in der embryologischen Literatur Berichte über analoge Erscheinungen zu finden.

Die ersten Entwicklungsstadien des Embryosackes liegen mir in meinen Präparaten nur in einzelnen Stichproben vor, aus denen aber hervorgeht, daß die Entwicklung des Embryosackes vollkommen in der für die meisten Angiospermen geltenden Art vor sich geht. Eine der Megasporen, und zwar, soweit ich das überhaupt verfolgt habe, die unterste, wächst zum Embryosack aus. Der Kern des einkernigen Embryosackes macht jedesfalls die drei gewöhnlichen Teilungsschritte durch. In einem Präparat sah ich denn auch die normalen vier Kernspindeln, zwei an jedem Pole, so daß sich also der achtkernige Embryosack ausbildet. Während der Entwicklung des letzteren gehen alle Zellen des Nucellus bis auf eine kleine Gruppe von Zellen an der Basis zugrunde. Oberhalb und an den Seiten des sich vergrößernden Embryosackes findet man zu dieser Zeit zwischen diesem und dem inneren Integument die stark tingierten, mehr oder weniger zerquetschten Reste von Zellen des Nucellus. Zur Zeit, da der normale Embryosack vollkommen ausgebildet ist, sind auch diese Reste völlig aufgezehrt.

Bei dieser Gelegenheit sei eines Ausnahmsfalles gedacht. Einmal fand ich nämlich zwei Embryosäcke übereinander, einen größeren unteren, vierkernigen und einen kleineren oberen, zweikernigen (Fig. 10). Auch dafür, daß sich unter Umständen zwei solcher Embryosäcke weiter entwickeln können, fand sich in einer Schnittserie, welche völlig ausgebildete, aber noch unbefruchtete Embryosäcke enthielt, ein Beleg. Fig. 11 zeigt eine etwas schief angeschnittene Samenanlage, in der zwei durch eine sehr deutliche, schräge Wand getrennte Embryosäcke übereinander auftreten. In beiden Embryosäcken waren Antipoden nicht nachzuweisen, sei es, daß sie bereits aufgezehrt waren, sei es, daß sie infolge der schiefen Lage der Embryosäcke der Beobachtung entgangen sind.

Einen vollständig entwickelten Embryosack von *H. maculatum* führt Fig. 12 vor. Der Nucellus ist völlig geschwunden bis auf einen kleinen Rest an der Basis; die Zellen des letzteren

sind klein und plasmareich und ihre Grenzen infolge der Zartheit der Membranen kaum festzustellen.

Der Eiapparat steht direkt mit dem inneren Integument in Kontakt. Die abgebildete Stelle (Fig. 12) bietet Klarheit über die Anheftungsverhältnisse der Synergiden und des Eies. Die ersteren, die senkrecht zur Bildebene übereinander liegen und basalwärts die charakteristische Vakuole zeigen, nehmen den Scheitel des Embryosackes ein, während die eine große mehr gegen die Spitze zugewendete Vakuole zeigende Eizelle seitwärts unter dem Scheitel angeheftet ist. Der Kern der letzteren ist nur wenig größer als die Synergidenkerne.

Der Antipodialapparat besteht, soweit ich mich davon überzeugt habe, aus den gewöhnlichen drei Zellen. Die in Fig. 12 abgebildete Stellung derselben scheint die vorherrschende zu sein. Zwei derselben nehmen das untere Ende des Embryosackes ein und haben zusammen die Gestalt eines Kegels, dessen Spitze etwas in den Nucellarrest eindringt, während die dritte seitwärts angeheftet ist. Die drei Antipodenzellen sind im Vergleich zu den übrigen Zellen des Embryosackes außerordentlich klein und lassen infolgedessen außer den sich deutlich färbenden Kernen keine anderen Strukturen erkennen. Sie machen den Eindruck eines reduzierten Organs.

Trotz dieser auffallenden Verschiedenheit des Antipodial- und des Eiapparates tritt ein gewisser Parallelismus zwischen beiden ganz deutlich hervor. Zwei der Antipoden nehmen die untere Spitze des Embryosackes ein und sind wegen ihrer Stellung den Synergiden vergleichbar, während die dritte, seitwärts angeheftete, der Eizelle an die Seite zu stellen wäre. Daß die beiden unteren Antipoden Schwesterzellen sind, kann ich als wahrscheinlich bezeichnen, da mir ein Schnitt durch einen Embryosack während des dritten Teilungsschrittes vorliegt, bei welchem sich die eine der beiden antipodialen Teilungsfiguren ganz am unteren Ende des Embryosackes befindet, also wahrscheinlich die beiden den Synergiden vergleichbaren Antipoden liefern wird, während die andere etwas darüber liegt und die dritte Antipode und den unteren Polkern liefern dürfte. Die beschriebene Stellung der Antipoden erscheint unter dem Gesichts-

punkt der von Porsch[1] vertretenen Embryosacktheorie verständlich.

Die Polkerne sind schon ganz kurze Zeit nach ihrer Entstehung, so wie es Fig. 12 zeigt, in der Nähe des Eiapparates zu finden. Nur ganz vereinzelt konnte ich etwas frühere Stadien feststellen. So zeigt Fig. 13 einen Embryosack, wo sich der untere Polkern ein Stück von den Antipoden gegen die Mitte zu entfernt hat, während der obere nur ein klein wenig vom Eiapparat abgerückt erscheint. In dem in Fig. 14 abgebildeten Embryosack finden wir bereits die beiden Polkerne in der Mitte desselben aneinandergeschmiegt. Darnach zu schließen, dürfte sich die Wanderung der Polkerne folgendermaßen vollziehen: Diese wandern von den Orten ihrer Bildung aus gegeneinander, um sich in der Mitte des Embryosackes zu treffen und von hier nebeneinander zum Eiapparat zu begeben. Diese Wanderung dürfte jedesfalls sehr rasch erfolgen, da ich in fast allen jungen achtkernigen Embryosäcken die Polkerne in der Nähe des Eiapparates fand, wo sie fortan bleiben.

Die Fig. 12 bis 14 lassen noch eine andere Veränderung der Polkerne deutlich erkennen. Diese sind nämlich nach Abschluß ihrer Wanderung deutlich größer als während und vor derselben. Im reifen, befruchtungsfähigen Embryosack sind die Polkerne weitaus die größten Kerne; vor allem haben sie einen sehr großen Nucleolus.

Der reife Embryosack erfährt nun im Laufe seiner weiteren Entwicklung bis zur Befruchtung nur mehr wenige Veränderungen. Fig. 15 zeigt zunächst gegenüber Fig. 12 eine ganz nennenswerte Größenzunahme. Die Zellen des Eiapparates haben sich ebenfalls etwas vergrößert. Das in die Mikropyle hineinragende obere Ende der Synergiden zeigt insofern eine deutliche Veränderung, als es nicht mehr aus feinkörnigem Protoplasma gebildet wird, sondern aus einer sich bei Anwendung von Chlorzinkjod blaufärbenden, etwas verdickten Membran besteht. Einen Fadenapparat konnte ich niemals erkennen. Eine weitere Veränderung betrifft die Antipoden, die in diesem

[1] Porsch O.: Versuch einer phylogenetischen Erklärung des Embryosackes und der doppelten Befruchtung der Angiospermen (Jena 1907).

Stadium vollständig verschwunden sind. Der Nucellarrest dagegen ist unverändert geblieben und bildet eine durch Eisenhämatoxylin sich ziemlich stark färbende Masse, in der man die Grenzen und die Struktur der Zellen schwer erkennen kann.

Einige Beachtung scheinen mir noch die beiden Integumente zu verdienen. Das innere besteht aus etwa fünf bis sechs Zellschichten, von welchen die innerste und die äußerste epithelartig angeordnet sind. Das äußere Epithel zeigt in der Gegend der Mikropyle eine auffallende Ausbildung. Hier erscheinen nämlich die Zellen bedeutend in die Länge gestreckt.

Das äußere Integument ist im allgemeinen zweischichtig, nur gegen die Chalaza zu und in der Mikropylengegend wird es mehrschichtig. Ein Längsschnitt durch die Samenanlage, welcher, wie der in Fig. 15 abgebildete, so geführt ist, daß der Funiculus genau in der Längsrichtung getroffen wurde, zeigt uns, wie das obere stark angeschwollene Ende des äußeren Integumentes sich kappenartig über die Öffnung des inneren Integumentes hinüberlegt. Der Funiculus schmiegt sich in der Mikropylengegend der von den Integumenten gebildeten äußeren Form auf das genaueste an. Wie die Figur zeigt, treibt er in die von den Integumenten freigelassenen Vertiefung durch Verlängerung seiner Epidermiszellen einen Vorsprung hinein, den ich im folgenden als Funicularvorsprung bezeichnen will.

Da die äußeren Epidermiszellen des inneren Integumentes in der Mikropylengegend und auch die des Funicularvorsprunges in so auffallender Weise ausgebildet sind, scheint es nahezuliegen, an eine besondere Funktion zu denken. Doch habe ich keine verläßlichen Anhaltspunkte für irgend eine Deutung gefunden. Es läge vielleicht nahe, einen Zusammenhang mit der Anlockung oder Leitung des Pollenschlauches zu vermuten; doch könnte ich kaum irgend eine Beobachtung zur Stütze dieser Vermutung anführen. Aber ein anderer Gesichtspunkt scheint mir Beachtung zu verdienen. Diese langgestreckten Zellen treten nämlich gerade an einer Stelle auf, wo eine Zeitlang während der Entwicklung der Integumente ein freier Raum vorhanden ist (vgl. Fig. 9 bei *). Es haben also gerade hier die angrenzenden Zellen des inneren Integumentes und des Funicularvorsprunges die Möglichkeit, sich zu vergrößern. Vielleicht

wäre also diese auffallende Verlängerung der Zellen nichts anderes als eine aus den gegebenen Raumverhältnissen sich erklärende Wachstumserscheinung, der entweder keine besondere funktionelle Bedeutung zukommt oder die nur zur Herstellung eines festen Abschlusses des Embryosackes beiträgt.

Ein weiterer an dieser Stelle zu besprechender Punkt ist die Beschaffenheit der Mikropyle, die in der Fig. 15 als ein schmaler Spalt wiedergegeben ist, die aber in Wirklichkeit durch die innige Aneinanderlagerung der beteiligten Integumentteile und des Funicularvorsprunges geschlossen ist. Über den etwas komplizierten Verlauf dieses Mikropylenspaltes wird die Abbildung ausreichende Klarheit verschaffen.

Die Befruchtung.

Damit sind wir bis zu den mit der Befruchtung zusammenhängenden Erscheinungen gelangt.

Was zunächst den Verlauf des Pollenschlauches betrifft, so muß er als vollständig normal bezeichnet werden. Ich konnte ihn in allen Teilen des doch ziemlich gewundenen Mikropylenspaltes feststellen. Hierzu erwiesen sich besonders einige Schnittserien geeignet, welche bereits wenigzellige Embryonen enthielten. Einer solchen ist auch Fig. 16 entnommen, welche uns einerseits Pollenschlauchstücke außerhalb der Samenanlage, andrerseits einen eingedrungenen Pollenschlauch zeigt. An diesem kann man deutlich eine stark gequollene Membran und wenigstens ein Stück weit einen stark tingierten Inhalt unterscheiden. Das bis zum Eiapparat vorgedrungene Ende ist etwas angeschwollen. Auch in Präparaten, welche Befruchtungsstadien aufwiesen, war der Pollenschlauch oft festzustellen, jedoch nie so deutlich wie in den erwähnten späteren Stadien, in denen derselbe gewissermaßen aufgequollen erscheint.

Die Befruchtung erfolgt in der für die meisten Angiospermen typischen Weise. Leider ist es mir nicht gelungen, einen Embryosack zu finden, in welchem die beiden Spermakerne mitten in der Wanderung von der Fixierungsflüssigkeit überrascht wurden. Aber dafür konnte ich eine große Zahl von Embyosäcken finden, in denen die Verschmelzung von Ei- und Spermakern eben vollzogen erscheint.

Fig. 17 zeigt uns zwei Nachbarschnitte, die uns in klarer Weise den Zustand eben nach der Befruchtung vorführen. In Fig. 17 *a* kann man den Verlauf des Pollenschlauches in dem vom inneren Integument gebildeten Teil der Mikropyle deutlich verfolgen. Die große Eizelle zeigt einen Kern mit zwei Kernkörperchen, einem größeren, welcher der unbefruchteten Eizelle, und einem kleineren, der einem Spermakern angehörte. Der in 17 *b* abgebildete Schnitt enthält die eine unversehrt gebliebene Synergide. Von der anderen ist nur eine stark tingierte, keine weitere Struktur erkennen lassende Masse vorhanden, von welcher in unserer Figur ein. kleiner Teil der unversehrten Synergide anliegt. Knapp unterhalb des Eiapparates befindet sich ein großer Zellkern, der ganz zweifellos als Verschmelzungsprodukt aus drei Kernen zu deuten ist. Wir sehen nämlich in ihm vor allem einen sehr großen Nucleolus, der die für das Verschmelzungsprodukt der Polkerne charakteristische Größe hat. Ich konnte mich nämlich durch eine große Zahl von Messungen davon überzeugen, daß die Durchmesser der Kernkörperchen der Polkerne einerseits und des primären Endospermkernes andrerseits fast konstant, jedesfalls die Schwankungen viel zu gering sind, um den Unterschied verwischen zu können. In meinen Präparaten hatte der Nucleolus der Polkerne zirka 2·5 μ und der des Verschmelzungskernes 4·4 μ.[1] Daraus geht aber mit größter Sicherheit hervor, daß der große Nucleolus des hier besprochenen Kernes einem primären Endospermkern entstammt. Der kleine Nucleolus kann aber nur von einem Spermakerne herrühren. Dieses Präparat zeigt also ganz zweifellos, daß bei *H. maculatum* doppelte Befruchtung in der Weise stattfinden kann, daß der zweite Spermakern mit dem sekundären Embryosackkern verschmilzt.

Daß aber die Reihenfolge der Verschmelzung bei der Bildung des primären Endospermkernes auch eine andere sein kann, zeigen mehrere Fälle, die ich in derselben Schnittserie, der Fig. 17 entstammt, beobachten konnte. Ich fand nämlich

[1] Daß die hier angedeutete Methode allgemein anwendbar ist, müßte erst an größerem Material festgestellt werden. Denn die bei meinen Messungen verwendeten Samenanlagen stammen aus Fruchtknoten von Pflanzen desselben Standortes, welche gleichzeitig fixiert wurden.

Embryosäcke, wo die Eizelle zwei Nucleolen aufwies, also bereits befruchtet war; dagegen lagen die beiden Polkerne noch unverschmolzen nebeneinander und der eine derselben — ob der obere oder untere, läßt sich nicht entscheiden — wies neben seinem gewöhnlichen noch einen zweiten kleinen Nucleolus auf, hatte also wahrscheinlich einen Spermakern in sich aufgenommen.

Diese Beobachtungen stimmen also vollständig zu der Feststellung von Coulter und Chamberlain: »Every possible order in the fusion of the three nuclei has been observed, so that the triple fusion is brought about in a variety of ways.« Die vorliegenden Beobachtungen erbringen aber überdies ein Beispiel dafür, daß selbst bei einer und derselben Spezies die Reihenfolge der Verschmelzung verschieden sein kann.

Bei dieser Gelegenheit sei überhaupt hervorgehoben, daß in bezug auf den Zeitpunkt der Verschmelzung der beiden Polkerne kein einigermaßen konstantes Verhalten festzustellen ist. In einer Schnittserie, welche nur unbefruchtete, aber völlig ausgebildete Samenanlagen enthält, findet man sowohl die Polkerne als auch deren Verschmelzungsprodukte, und zwar stets in der Nähe des Eiapparates. Andrerseits kann man in Schnittserien mit Befruchtungsstadien, ja selbst in solchen mit zwei- bis dreizelligen Embryonen bisweilen noch unbefruchtet gebliebene Samenanlagen mit unverschmolzenen Polkernen auffinden.

Entwicklung des Endosperms, des Embryos und der Samenschale.

Die ersten nach der Befruchtung festzustellenden Veränderungen betreffen den primären Endospermkern, der ja bei den meisten Angiospermen dem befruchteten Ei in der Entwicklung vorauseilt. Die erste Teilung erfolgt in unmittelbarer Nähe des Eiapparates oder auch — wie ich in einem Falle feststellen konnte — ein wenig von diesem entfernt.

Nach dem ersten Teilungsschritte zeigt der Embryosack das in Fig. 18 dargestellte Stadium. Der eine Endospermkern ist bei der Eizelle zu finden, während der zweite mehr gegen den Grund des Embryosackes zu gewandert ist. Während das

Endosperm schon zweikernig geworden ist, ist die Verschmelzung von Ei und Spermakern noch nicht ganz abgeschlossen, wie die getrennten Nucleolen der Eizelle zeigen.

Der obere und der untere Endospermkern treten nun sehr bald in das Teilungsstadium und zwar beide gleichzeitig ein (Fig. 19). Das sich daraus ergebende Bild ist in Fig. 20 dargestellt. Von den vier Endospermkernen liegt einer der Eizelle an, während die übrigen in verschiedener Höhe an der Wand des Embryosackes verteilt sind. Gleichzeitig können wir feststellen, daß noch immer eine Synergide erhalten ist und daß sich die Eizelle in auffallender Weise verändert hat. Zunächst sind ihre beiden Nucleoli vollständig in einen verschmolzen und im Protoplasma, dessen Menge bedeutend vermehrt erscheint, finden wir jetzt zahlreiche kleinere Vakuolen, alles Anzeichen, daß sich die erste Teilung des befruchteten Eies vorbereitet. In der Antipodialgegend, die schon im früheren Stadium keine Spur von den Antipoden mehr zeigte, ist der Nucellarrest nur mehr in stark tingierten, undeutlichen Resten oder auch gar nicht mehr zu finden.

Zur Zeit, da bereits wenigzellige Embryonen vorhanden sind, bietet die Samenanlage ein Bild, wie es der in Fig. 21 abgebildete Längsschnitt darstellt.

Vor allem müssen wir feststellen, daß die Samenanlage nach der Befruchtung in allen Teilen bedeutend an Größe zugenommen hat.[1] Ein Vergleich der in den Fig. 15 und 21 bei gleicher Vergrößerung dargestellten Stadien sagt uns sofort, daß diese Größenzunahme im wesentlichen durch das Wachstum der einzelnen Zellen und nicht durch deren Vermehrung erfolgte. Von dieser Größenzunahme abgesehen, erscheinen die Integumente ziemlich unverändert. Hervorzuheben wäre nur, daß

---

[1] Folgende Maßangaben für die Länge der Samenanlagen dürften die Größenzunahme beleuchten. (Die Zahlen sind Durchschnittszahlen aus je 10 Messungen):

Im Stadium der Fig. 16	240 μ
Im Befruchtungsstadium	270 »
Endosperm, vierkernig	290 »
Zweizellige Embryonen	450 »
Sechszellige Embryonen	530 »

die den Embryosack umschließende Schichte des inneren Integumentes, die früher besprochenen verlängerten Zellen an dem oberen Ende desselben, die ebenso verlängerten Zellen des Funicularvorsprunges und das kappenförmige Ende des äußeren Integumentes bedeutend plasmareicher erscheinen als die übrigen Partien der den Embryosack umhüllenden Organe.

Im oberen Ende des Embryosackes finden wir einen dreizelligen Embryo. Die beiden Synergiden sind in diesem Stadium völlig verschwunden.[1] Das Endosperm hat sich in sehr bemerkenswerter Weise weiter entwickelt. Zunächst erscheint der ganze Embryosack von einer zarten wandständigen Plasmaschichte ausgekleidet, in der zahlreiche freie Kerne verteilt sind. Ein zweiter Teil des Endosperms befindet sich in der Umgebung des Embryos, der fast ganz in eine dichte, vakuolenfreie, körnige Protoplasmamasse eingebettet ist, so daß nur seine Endzelle in die große Vakuole des Embryosackes hineinragt. In dieser Plasmamasse befindet sich ebenfalls eine größere Anzahl freier Endospermkerne. Der dritte Teil des Endosperms ist in diesem Stadium vorläufig noch schwach entwickelt, er wird in der Fig. 21 durch einen einzigen Kern mit dem umgebenden Plasma im antipodialen Ende des Embryosackes repräsentiert. Es wird die Darstellung der weiteren Entwicklungsstadien etwas vereinfachen, wenn ich im folgenden die drei Teile des Endosperms kurz als wandständiges, als mikropylares und als antipodiales Endosperm bezeichne. Die drei Teile stehen selbstverständlich untereinander in direktem Zusammenhang.

Das mikropylare Endosperm stammt wahrscheinlich von einem einzigen Endospermkern ab, und zwar von demjenigen, welcher in dem in Fig. 20 dargestellten Stadium in der Nähe der Eizelle verblieben ist. In derselben Figur scheint der unterste der vier Endospermkerne dem unteren Ende des Embryosackes zuzuwandern und vermutlich der Ausgangspunkt des antipodialen Endosperms zu werden. In der Tat fand ich in meinen Präparaten auch solche gleichen Stadiums (also vier Endospermkerne), bei welchen sich bereits einer in dem durch die Auf-

[1] Dagegen ist bisweilen der Pollenschlauch sehr gut zu erkennen (vgl. p. 168 und Fig. 16).

lösung des Nucellarrestes völlig ausgenagt erscheinenden unteren Ende des Embryosackes einzunisten beginnt.

In diesem Stadium nun (vgl. Fig. 21 und 22) sind die Endospermkerne in besonderer Weise ausgebildet. Sie sind sehr groß, besitzen einen sehr großen Nucleolus und zur Zeit der Teilung erweisen sie sich auch reich an Chromatin. Da sie meiner Ansicht nach im Dienste einer ganz bestimmten Funktion stehen, möchte ich sie am liebsten als »aktive« Kerne bezeichnen und auf das schärfste einer anderen Art von Kernen gegenüberstellen, welche zahlreiche Autoren bei verschiedenen Angiospermen aufgefunden haben; als Beispiele dieser zweiten Art von Kernen seien hier nur die besonders von Huss[1] untersuchten Antipodenkerne der Ranunculaceen und der Riesenkern im Embryoträger von *Zostera*[2] genannt und für diese verwendet Huss die Bezeichnung hypertrophierte Kerne.

Worin besteht nun in diesem Stadium die Funktion der Endospermkerne? Ich glaube nun im folgenden die Ansicht vertreten zu können, daß das Endosperm in diesem Stadium eine wichtige Rolle bei der Ernährung des Embryos spielt.

Zunächst müssen wir uns vor Augen halten, daß gerade zu dieser Zeit, wo der Embryo heranwächst, ein besonderes Bedürfnis nach Stoffzufuhr besteht. Dem Embryosack stand während seiner Entwicklung eine Nahrungsquelle zu Gebote in den zugrundegehenden Teilen des Nucellus, der Antipoden und des Nucellarrestes. Zur Zeit der Befruchtung fand ich ferner stets in der Nähe des Eiapparates einige Stärkekörner. Kurz nach der Befruchtung gehen die Synergiden zugrunde und deren Baustoffe sowie der Stärkevorrat werden nur für ganz kurze Zeit den Bedürfnissen des heranwachsenden Embryos und des sich vermehrenden Endosperms genügen können. Es muß also die Nahrung von außen zugeführt werden. Der Weg, auf welchem dies geschieht, ist das Gefäßbundel. Man könnte zwar auch an eine Ernährung des Embryosackes

[1] H. A. Huss, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Antipoden (Beihefte zum bot. Zentralbl., Bd. XX, 1. Abt., S. 77 bis 174 [1906].

[2] O. Rosenberg, Über die Embryologie von *Zostera marina* (Bihang till k. Svenska Vet.-Akad. Handlingar, Bd. 27, Afd. 3, Nr. 6 [1902]).

von der Mikropylarseite her denken; doch stehen dieser Ansicht die Kutinisierungsverhältnisse im Wege. Der Ernährungsstrom geht also zweifellos durch die Chalaza, wird dort gewissermaßen vom Endosperm in Empfang genommen und bis in die Gegend des Verbrauches, d. i. zum jungen Embryo, weitergeleitet. An zwei Stellen erscheint nun die Entwicklung des Endosperms besonders begünstigt, nämlich am unteren Ende des Embryosackes, welches mit dem Gefäßbündel in direktem Kontakt steht, und am oberen Ende, wo von allen Seiten die Nährstoffe zusammenströmen, und an diesen Stellen werden sich die Endospermkerne in besonders reichem Maße vermehren. Von diesem Standpunkt aus erscheint also bereits die Ausbildung des mikropylaren und des antipodialen Endosperms einigermaßen verständlich.

Es scheint mir aber auch sehr wahrscheinlich, daß gerade die Endospermkerne bei diesem Stofftransport aktiv beteiligt sind. Wohl wissen wir von den chemischen Vorgängen in Plasma und Kern viel zu wenig, als daß wir uns über die Art und Weise der Mitwirkung der Kerne aussprechen könnten und wir sind mangels exakter Methoden auf Analogieschlüsse angewiesen. Da spricht nun die ganze Beschaffenheit und die relative Größe der Kerne des Endosperms zweifellos für meine Ansicht. Es hätte also danach das antipodiale Endosperm die Aufgabe, die vom Gefäßbündel zugeleiteten Stoffe an sich zu ziehen und dabei wahrscheinlich irgendwie chemisch umzuwandeln. Die so gewonnenen Stoffe werden durch die Vermittlung des wandständigen Endosperms zum Embryo weitergeleitet und die mikropylaren Endospermkerne hätten dann wieder die ganz besondere Aufgabe zu übernehmen, die Nährstoffe dem Embryo zuzuführen. Es würde also der morphologischen Dreiteilung des Endosperms auch eine funktionelle entsprechen. Zu beachten scheint mir dabei noch weiterhin, daß die Endospermkerne gerade dort besonders entwickelt sind, wo besonders viel zu tun ist, und dies steht in schönster Übereinstimmung mit den äußerst zahlreichen Beobachtungen, die seit den grundlegenden Arbeiten Haberlandt's über die Beziehungen zwischen Lage und Funktion des Zellkernes gemacht wurden.

Die Zellteilungsfolge im Embryo habe ich nicht zum besonderen Gegenstande des Studiums gemacht; doch kann ich wohl behaupten, daß sie sich dem bei den meisten Dikotylen vorkommenden *Capsella*-Typus anschließt. Hier möchte ich nur zweier Ausnahmsfälle gedenken, die ich ganz vereinzelt in den Schnittserien, denen auch Fig. 21 angehört, angetroffen habe.

Fig. 23 zeigt einen Fall von Polyembryonie. Zwei Embryonen, deren Endzelle sich bereits einmal in der Längsrichtung geteilt hat, treten nebeneinander auf. Über die Entstehung dieser beiden Embryonen kann natürlich dieser vereinzelte Fall nichts Sicheres aussagen. Ich glaube jedoch annehmen zu dürfen, daß diese aus zwei Eizellen hervorgegangen sind. Denn erstens werden in der Literatur nicht selten vereinzelte Fälle berichtet, in denen zwei Eizellen nebeneinander auftreten, und zweitens — und dies scheint mir den Ausschlag zu geben — stimmt der zweite von mir beobachtete Ausnahmsfall recht gut mit meiner Ansicht überein. Fig. 24 zeigt nämlich einen zweizelligen normalen Embryo (dessen Endzelle nur teilweise in den abgebildeten Schnitt zu liegen kommt), umgeben von mikropylarem Endosperm, und links vom Embryo finden wir eine von einer deutlichen Membran umschlossene Zelle, die ich für eine — wahrscheinlich unbefruchtet gebliebene — Eizelle halte. Nach der Lage der Vakuole vor dem Zellkern erscheint es ja ganz unwahrscheinlich, daß hier eine sich ausnahmsweise so lange erhaltende Synergide vorliegt. Ich glaube also mit Recht den Wahrscheinlichkeitsschluß ziehen zu dürfen, daß bei *H. maculatum* ganz vereinzelt zwei Eizellen auftreten und daß aus jeder derselben Embryonen entstehen können.

Die nächstfolgenden Figuren zeigen ein bedeutend weiter vorgeschrittenes Stadium, in welchem bereits die Samenschale angelegt ist.

Fig. 25 zeigt uns den oberen Teil einer solchen Samenanlage, die wiederum gegenüber der in Fig. 21 dargestellten eine bedeutende Größenzunahme[1] erkennen läßt. Im oberen

[1] Die Länge des jungen Samens beträgt in diesem Stadium etwa 850 μ und nimmt auch bis zur völligen Reife nicht mehr zu.

Teile des ebenfalls bedeutend erweiterten Embryosackes fällt vor allem der Embryo auf, der bereits die Anlage der beiden Cotyledonen erkennen läßt. Sein Suspensor besteht aus einer einzigen Zellreihe, der wir nach der ganzen Beschaffenheit keinerlei Funktion bei der Ernährung des Embryos zuschreiben werden. Der Embryo, der Suspensor und die ganze Innenfläche des Embryosackes sind von einer zusammenhängenden Plasmaschichte mit freien Endospermkernen bekleidet. Der Unterschied zwischen wandständigem und mikropylarem Endosperm, der in Fig. 21 so klar ausgeprägt erscheint, ist in diesem Stadium vollkommen verwischt.

Der Embryosack ist jetzt von einer in charakteristischer Weise verdickten Zellschichte umschlossen. Diese besteht in der Gegend der Mikropyle aus bedeutend verlängerten Zellen und ist daher ganz zweifellos aus der äußersten Lage des inneren Integuments entstanden. Alle anderen Schichten des letzteren gehen zugrunde und ihre letzten Spuren sind in der Fig. 25 in der Gegend der Mikropyle zu finden.

Dieses Zugrundegehen der Hauptmasse des inneren Integuments ist meiner Ansicht nach von großer ernährungsphysiologischer Bedeutung. Denn auf diese Weise werden große Mengen von Baustoffen flüssig, die mindestens zum größeren Teile dem heranwachsenden Embryo zugute kommen. Dieser ist daher nicht mehr auf die von der Chalaza her zugeführten Stoffe angewiesen. Durch die so zustande kommende Umwälzung in der Ernährungsweise des Embryos wird nun aber auch eine exzessive Entwicklung des antipodialen Endosperms verständlich, die weiter unten noch nähere Besprechung erfahren soll.

Vorher sei noch auf die aus den Integumenten hervorgehende Samenschale aufmerksam gemacht. Diese besteht im allgemeinen aus drei Zellschichten, nur im Bereiche der Mikropyle und der Chalaza ist sie dicker. Fig. 27 ist eine Partie aus dem Längsschnitt einer Samenschale gleichen Alters. Die mit *a* bezeichnete Schichte ist die früher erwähnte äußerste Zellschichte des inneren Integuments, *b* und *c* werden vom äußeren Integument gebildet. Trotz ihrer verschiedenen Entstehung erscheinen die Schichten *a* und *b* auf das innigste miteinander

verbunden. Die Schichte *a* ist schon zu dieser Zeit deutlich verdickt und besitzt auf allen Wänden zahlreiche, dicht nebeneinanderliegende Tüpfel. Ihre Zellen zeigen Plasma und Kern, ein Zeichen, daß ihre Ausbildung noch nicht abgeschlossen ist. Die Schichte *b* ist mit *a* gewissermaßen verzahnt, indem ihre Zellen gegen die letztere blasenförmig vorgewölbt sind. Die Schichte *c* besteht aus flachen Zellen mit wahrscheinlich abgestorbenem Inhalt. Innerhalb der Schichte *a* finden wir die Reste der gänzlich der Auflösung anheimfallenden inneren Schichten des inneren Integuments.

Sehr lehrreich ist das Aussehen der drei Schichten *a*, *b* und *c* an tangentialen Schnitten (Fig. 28 *a*, *b*, *c*). Die Form der Zellen der Schichte *a* erinnert durch ihren Umriß an die Epidermiszellen vieler Laubblätter. Zahlreiche Vorsprünge und Einbuchtungen greifen lückenlos ineinander ein, eine Erscheinung, welche zusammen mit der Verdickung und Verholzung als Festigkeitskonstruktion verständlich ist. Die Zellen der Schichte *b* haben dagegen einen polygonalen Umriß und zeigen dort, wo ihrer drei zusammenstoßen, sehr auffallende Kantenverdickungen. Die äußerste Schichte *c* besteht aus Zellen von wesentlich anderem Aussehen.

Das Verhalten der Integumente in der Gegend der Mikropyle zeigt Fig. 25. Das kappenförmige Ende des äußeren Integuments und der Funikularvorsprung sind, abgesehen von einer deutlichen Vergrößerung der Zellen, unverändert geblieben. Der Funiculus zeigt gerade an der Stelle, wo er in die Samenanlage übergeht, eine sehr auffallende Einschnürung, durch die bereits in diesem Stadium die Ablösungsstelle des Samens gekennzeichnet ist. Ich will gleich jetzt bemerken, daß ich an etwas älteren Stadien vergebens nach einem Trennungsgewebe gesucht habe, was natürlich kein Beweis für das Fehlen eines solchen sein kann.

In demselben Stadium, welchem Fig. 25 angehört, zeigt nun das Antipodialendosperm den Höhepunkt seiner Entwicklung. In Fig. 26 finden wir zunächst die charakteristisch verdickten Zellen (entsprechend *a* in Fig. 28) der Samenschale, innerhalb derselben die in Auflösung begriffenen inneren Schichten des inneren Integuments. Das antipodiale Endosperm

bildet einen gegen den Embryosack zu scharf abgegrenzten, jedoch nie von einer Membran abgeschlossenen Klumpen, in welchem sich zahlreiche große Endospermkerne finden, von welchen in dem abgebildeten Schnitte acht enthalten sind. Während in früheren Stadien (vgl. Fig. 21 und 22) das Endospermprotoplasma mit seinen Kernen sehr tief in die Chalaza bis zum Gefäßbündelende vordrang, hat es sich jetzt mehr gegen das Innere des Embryosackes zurückgezogen. In unserer Fig. 26 sehen wir zwischen den zugrundegehenden Zellen des inneren Integuments einen Kanal mit äußerst zartfaserigem Inhalt. Dieser Kanal läßt sich an günstigen Stellen nach unten zu bis zum Gefäßbündelende verfolgen und bisweilen habe ich ganz kurze haustorienähnliche Auswüchse bis zu diesem vordringen gesehen.[1] Jetzt aber ist wahrscheinlich diese Nahrung zuführende Funktion des Antipodialendosperms zu Ende. Denn dieses hat sich mehr gegen das Innere des Embryosackes zurückgezogen und zeigt dort diese merkwürdige Ausbildung, welcher sich meines Wissens nichts Ähnliches unter den Angiospermen an die Seite stellen läßt.

Wie erklärt sich nun diese Ausbildung des antipodialen Endosperms? Im Zusammenhang mit der Meinung, die ich mir über die Ernährung des Embryos in der Samenanlage gebildet habe, erscheint mir auch sie verständlich. Wie bereits erörtert wurde, wird der jugendliche, aus ganz wenig Zellen bestehende Embryo von der Chalaza aus durch Vermittlung des Endosperms ernährt. Der anfangs nur aus ein oder zwei freien Kernen bestehende antipodiale Teil des letzteren ist bis zum Gefäßbündel vorgedrungen und hat die Aufgabe übernommen, die zugeführten Stoffe dem wandständigen Endosperm zu übermitteln. Von diesem werden sie unter der Mitwirkung des Mikropylarendosperms, das zu dieser Zeit seinen Höhepunkt erreicht, dem Embryo zugeführt. Während des weiteren Wachstums des letzteren gehen die inneren Schichten des inneren Integuments zugrunde. Die dadurch freiwerdenden Bestandteile finden für das weitere Wachstum des Embryos Verwendung. Infolgedessen wird dieser viel geringeres Bedürfnis

[1] Bei Fig. 26 ist die ungefähre Größe und Gestalt eines solchen haustorienartigen Auswuchses durch eine punktierte Linie angedeutet.

nach den vom Endosperm zugeführten Nährstoffen haben. Der Nährstoffstrom, der das ganze Endosperm in der Richtung von unten nach oben durchzieht, wird sich gewissermaßen stauen und der äußere Ausdruck dieser Stauung ist eine hypertrophische Ausbildung des antipodialen Endosperms. Die in diesem aufgespeicherten Stoffe werden, wie wir gleich sehen werden, bei dem weiteren Wachstum der Keimpflanze aufgebraucht.

Die Ansichten, die sich mir über die Ernährung des Embryos aufgedrängt haben, scheinen mir mit den Beobachtungen in vollkommenem Einklang zu stehen. Insbesondere die Tatsache, daß das Aufzehren des inneren Integuments mit dem Größerwerden des Embryos einerseits und der Förderung des Antipodialendosperms andrerseits Hand in Hand geht, scheint mir in einer sehr gewichtigen Weise zugunsten meiner Auffassung zu sprechen. Hingegen dürfte die so merkwürdige Beschaffenheit des Antipodialendosperms, losgelöst von der hier vertretenen Auffassung, völlig unverständlich bleiben.

Suchen wir in der Literatur über die Samenentwicklung der Angiospermen nach ähnlichen Erscheinungen, so liegt meines Erachtens der Vergleich mit den wohl entwickelten und lange erhalten bleibenden Antipoden mancher Pflanzen am nächsten.[1] Von hierher gehörigen seien vor allem die Ranunculaceen genannt, deren Antipoden von verschiedenen Autoren, insbesondere von Osterwalder, Westermaier, Lötscher und Huss[2] einer speziellen Untersuchung unterworfen wurden. Diese Arbeiten haben allerdings zu keinem vollkommen übereinstimmenden Ergebnis geführt, indem einige der Autoren eine spezielle Mitwirkung der Antipoden bei der Ernährung annehmen, während Huss nachgewiesen hat, daß die letzteren infolge der guten Ernährung zu hypertrophischen Zellen geworden sind, die Frage nach der Mitwirkung bei der Ernährung aber offen läßt. Jedenfalls schließen die beiden Standpunkte einander nicht absolut aus. Als eine den hypertrophischen Antipodenzellen der Ranunculaceen analoge

[1] Vgl. diesbezüglich die Aufzählung in Coulter and Chamberlain, Morphology of Angiosperms, New-York 1912, p. 97 bis 102.

[2] Bei Huss, l. c., sind die näheren Literaturangaben zu finden.

Erscheinung betrachte ich nun die Ausbildungsweise des Antipodialendosperms, wie sie uns bei *Hypericum* in den Samenanlagen von dem in Fig. 26 abgebildeten Stadium entgegentritt. Sie ist gewissermaßen aus dem Überfluß an zugeführtem Nährmaterial hervorgegangen, zunächst noch funktionslos, später aber noch weiteres Material liefernd für die Ausreifung des Samens, wie ja auch die oft enormen Antipoden der Ranunculaceen zur Zeit der Ausreifung des Samens wieder verschwinden.

Die weiteren Veränderungen des Samens bis zur völligen Reife sind wenig durchgreifend. Die Samenschale, die schon im Stadium der Fig. 25 bis 27 in ihren wesentlichen Teilen angelegt ist, braucht zu ihrer Vollendung nur mehr die in Fig. 27 mit *a* bezeichnete Schichte mit den endgültigen starken Wandverdickungen auszustatten. In Fig. 33 sehen wir diese verdickte und deutlich verholzte Zellschichte, deren Längsschnitt nur schwer die Grenzen zwischen benachbarten Zellen festzustellen gestattet, da das Zellumen durch die starke Wandverdickung sehr vermindert und infolge der komplizierten Form der Zellen, die wir bereits im früheren Stadium (vgl. Fig. 28 *a*) kennen gelernt haben, ein sehr unübersichtliches Bild zustande kommt.

Das Endosperm zeigt zunächst in seinem antipodialen Teile eine Veränderung. In einem Stadium, in welchem der Embryo mehr als halb so lang als die ganze Samenanlage geworden ist, beobachtete ich Veränderungen des antipodialen Endosperms, wie sie in den Fig. 29 und 30 wiedergegeben sind. Fig. 29 zeigt einige Kerne, die im Vergleich zu denen in Fig. 26 bedeutend vergrößert sind und bei denen insbesondere der mächtige Nucleolus auffällt. Die Hypertrophie des antipodialen Endosperms führt eben auch zu solchen, ich möchte sagen, monströsen Kernen, die ja aus den Antipoden der Ranunculaceen in noch gesteigertem Maße bekannt sind.

In derselben Schnittserie, der Fig. 29 entnommen ist, fand ich aber auch Antipodialendosperme, welche ein meiner Auffassung nach noch weiter vorgeschrittenes Verhalten zeigen. Fig. 30 stellt ein solches dar und man sieht zunächst eine Veränderung in der äußeren Form. Die ganze früher so scharf ausgeprägte Bildung scheint in Auflösung begriffen zu sein; man

gewinnt den Eindruck, daß sie gewissermaßen zerfließt. Auch die Kerne lassen nur ganz undeutliche Konturen erkennen und ihre Nucleolen sind in kleinere Ballen zerfallen.

Die Veränderungen des so wandelbaren Endosperms sind aber damit noch nicht abgeschlossen. In Samenanlagen, in welchen die Embryonen etwa zwei Drittel von der Länge derselben erreicht haben, fand ich nämlich ein gefächertes Endosperm, welches den ganzen Zwischenraum zwischen Embryo uud Samenschale ausfüllt.[1] Da dieses keinerlei nachweisbare Reservestoffe enthält (vgl. Fig. 31) — nur in dem Teile, welcher in der Nähe des unteren Teiles des Embryosackes liegt, erscheinen die Zellen plasmareicher — und ihm überdies nur ein kurzes Dasein beschieden ist, erscheint es nur phylogenetisch verständlich; es ist ein Zeichen, daß *Hypericum* von Formen abstammt, die ein — jedenfalls als Nährkörper fungierendes — Endosperm besaßen.

Zum Schlusse seien noch in Kürze einige Worte über den Bau des fertigen Samens hinzugefügt.

Fig. 32 zeigt uns einen Längsschnitt durch einen reifen Samen bei schwacher Vergrößerung. Das ganze Innere wird von dem großen Keimling ausgefüllt, an welchem wir die großen Keimblätter und ein verhältnismäßig langes Hypocotyl und die Anlage der Wurzelspitze samt Haube unterscheiden können. Der ganze Keimling wird von einer einzelligen Schichte umschlossen, welche aus dem Endosperm hervorgegangen ist. Die Samenschale besteht aus den drei bekannten Schichten, von welchen die innerste sehr dickwandig ist. Diese letztere ist in diesem Stadium in der Chalazagegend vollständig geschlossen, während sie früher dort unterbrochen war, um die Nahrungszufuhr von unten her zu ermöglichen. Fig. 33 zeigt eine kleinere Partie bei stärkerer Vergrößerung. Außer den drei Schichten der Samenschale sehen wir ein dem Keimling angehörendes Gewebe, das reichlich mit Reservestoffen angefüllt ist, und zwischen diesem und der Samenschale die aus sehr

---

[1] Zwar fand ich in meinen Präparaten zwischen dem Embryo und dem gefächerten Endosperm sehr häufig größere leere Zwischenräume; doch halte ich diese für ein von dem angewendeten Fixierungsmittel (Alkohol-Eisessig) herrührendes Kunstprodukt.

flachen Zellen bestehende Endospermschichte. Eine sehr zarte Lamelle zwischen dieser und der Schichte *a* möchte ich als den letzten Rest der inneren Schichten des inneren Integuments auffassen.

Es liegt nahe, die Befunde, die im Vorhergehenden wiedergegeben sind, zu irgendwelchen Schlüssen in phylogenetischer Hinsicht zu verwerten.

Im allgemeinen ist zunächst hervorzuheben, daß *Hypericum* in seiner Samenentwicklung keine Besonderheiten zeigt, welche von den übrigen Angiospermen in auffallender Weise abweichen würden. Nur weisen meiner Ansicht nach verschiedene Eigentümlichkeiten darauf hin, daß *Hypericum* eine stark abgeleitete Form ist. Von solchen seien hier angeführt: der kleine, aus relativ wenigen Zellen aufgebaute Nucellus, der Ausfall eines Tapetums, der rudimentäre Zustand des gefächerten Endosperms.

Um im einzelnen verwandtschaftliche Beziehungen zu anderen Pflanzen einer Diskussion zu unterziehen, müßte die Samenentwicklung der Guttiferae viel genauer bekannt sein. Da es also ganz an den Grundlagen fehlt, an die sich eine Diskussion phylogenetischer Fragen anschließen könnte, sei hier nur eine Frage gestreift. In der allerjüngsten Zeit hat Agnes Arber[1] den Versuch gemacht, die vielumstrittene Stellung von *Parnassia* zu klären und auf Grund eines vergleichenden Studiums der Blütenentwicklung sucht sie *Parnassia* in der Nähe von *Hypericum* unterzubringen. Da nun die Embryologie von *Parnassia* in neuerer Zeit von Chodat[2] und Pace[3] untersucht wurde, kann ein Vergleich der Samenentwicklung der beiden Gattungen zur Klärung der Frage etwas beitragen. Bei diesem Vergleich stütze ich mich bezüglich *Parnassia* abgesehen von den Arbeiten der beiden

---

[1] Agnes Arber, On the structure of the Androeceum in *Parnassia* and its tearing on the Affinities of the genus (Ann. of Bot., Vol. XXVII, No. CVII, July 1913).

[2] R. Chodat, Principes de botanique, 1907.

[3] L. Pace, Bot. Gazette, vol. L IV, S. 306—328 [1912].

genannten Autoren auch noch auf die allerdings wenig ausführlichen Angaben Eichinger's[1] und auch auf eigene Untersuchungen.

Von den Ähnlichkeiten zwischen *Parnassia* und *Hypericum* seien hier folgende angeführt:

1. Es treten zwei Integumente auf, von denen das innere früher angelegt wird.

2. Der Nucellus ist klein und besteht aus relativ wenigen Zellen.

3. Die Archesporzelle gliedert keine Tapetumzelle ab.

4. Während der Ausbildung des Embryosackes gehen die Nucelluszellen oberhalb und seitlich von demselben zugrunde.

5. Weg des Pollenschlauches und Befruchtung normal.

6. Das Endosperm eilt in der Entwicklung dem Embryo voraus und besteht anfangs aus freien Kernen, später tritt Fächerung ein.

7. Der Embryo verdrängt zur Zeit der Samenreife das ganze Endosperm bis auf eine einzellige Schichte.

8. Der Embryo im reifen Samen besteht aus einem großen, von einem Zentralstrang durchzogenen Hypocotyl und zwei großen Cotyledonen.

Wir finden also in der Tat eine ganze Reihe von übereinstimmenden Punkten, von denen allerdings einige ganz allgemein unter den Angiospermen auftretende Erscheinungen sind, während andere, wie Punkt 2, 3, 7und 8, auf Konvergenz beruhen können.

Prüfen wir die Unterschiede der beiden Gattungen, so sind besonders folgende anzuführen:

1. Bei den von mir untersuchten *Hypericum*-Arten zeigt das innere Integument in der Gegend der Mikropyle auffallende Differenzierungen, die in dieser Ausbildung bei *Parnassia* nicht vorkommen.

---

[1] A. Eichinger, Beitrag zur Kenntnis und syst. Stellung der Gattung *Parnassia* (Beih. bot. Zentralbl., XXIII, 2. Abt., p. 298 bis 317 [1908]).

2. Bei *Parnassia* fand Pace einen außerordentlich schön entwickelten Fadenapparat; bei *Hypericum* konnte ich einen deutlichen Fadenapparat nicht feststellen.[1]

3. Die Antipoden von Parnassia dauern länger aus als bei Hypericum.[2])

4. Der Embryo von *Hypericum* hat einen relativ langen Suspensor, der zur Zeit der Samenreife völlig verschwindet; der von *Parnassia* weist keinen solchen auf.

5. Im äußeren Integument von *Parnassia* treten Hohlräume auf, bei *Hypericum* nicht.

Von den angeführten Unterschieden hängt der fünfte wohl irgendwie mit der Verbreitungsökologie des Samens zusammen. Der zweite ist ganz unwesentlich. Eine größere phylogenetische Bedeutung besitzt aber meiner Ansicht nach der dritte und der vierte.

Der Vergleich der Samenentwicklung von *Hypericum* und *Parnassia* führt uns zu einem Resultat, das ich folgendermaßen formulieren möchte: Die Samenentwicklung von *Hypericum* und *Parnassia* stimmt wohl in ihren Grundzügen überein. Die Unterschiede sind dagegen bedeutend genug, so daß die Ansicht von Miß Arber, daß *Parnassia* in die Nähe von *Hypericum* zu stellen sei, durch den Vergleich der Samenentwicklung nicht gestützt erscheint.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Hofrat R. v. Wettstein für die gütige Erlaubnis, diese in Iglau 1912 begonnene Untersuchung mit den Hilfsmitteln des botanischen Institutes zu Ende zu führen, meinen ergebensten Dank auszusprechen. Ebenso bin ich auch Herrn Professor O. Porsch in Czernowitz für manche Anregung verpflichtet.

---

[1] Wahrscheinlich fehlt auch dieser Gattung der Fadenapparat nicht; es ist nur seine Feststellung außerordentlich schwer. Vgl. diesbezüglich A. Habermann, Der Fadenapparat in den Synergiden der Angiospermen (Beih. bot. Zentralbl., XX, 1. Abt., p. 300 bis 317 [1906].

[2]) Davon konnte ich mich durch eigene Untersuchung überzeugen; ich fand nämlich bei *Parnassia* selbst in Stadien mit wenigzelligen Embryonen gut erhaltene Antipoden.

Figurenerklärung.

Wo nicht anders angegeben, wurde die Figur mit einer Ölimmersion von Leitz $^1/_{12}$ a. und mit Hilfe eines Zeichenokulars von Leitz (Nr. 112) gezeichnet und dann teilweise für die Reproduktion verkleinert.

Tafel I.

Fig. 1. *Hypericum perforatum.* Sehr junge Samenanlagen im Längsschnitt.

Fig. 2. » » Samenanlage mit Andeutung des inneren Integuments und Archesporzelle.

Fig. 3. *Hypericum perforatum.* Samenanlage mit innerem Integument und Tetraden.

Fig. 4. *Hypericum maculatum.* Samenanlage mit den Anlagen beider Integumente.

Fig. 5. *Hypericum maculatum.* Samenanlage mit beiden Integumenten; die zum Embryosack werdende Zelle deutlich größer.

Fig. 6. *Hypericum perforatum.* Die Integumente haben bereits den Nucellus überwachsen.

Fig. 7. *Hypericum perforatum.* Die Epidermiszellen des Nucellus haben sich stark verlängert, insbesondere eine mit einem großen Kern.

Fig. 8. *Hypericum perforatum.* Obere Partie des Nucellus mit dem Umriß des inneren Integuments; ähnliches Stadium wie Fig. 7.

Fig. 9 und 9*a*. *Hypericum perforatum.* Zwei benachbarte Schnitte derselben Serie. 9 zeigt den Nucellus tangential getroffen; eine Epidermiszelle desselben hat sich stark vergrößert. Oberhalb derselben Reste anderer Epidermiszellen, von denen eine in den Raum (bei *) zwischen den Integumenten gedrungen ist. 9*a* zeigt den median geschnittenen Nucellus.

Tafel II.

Fig. 10. *Hypericum perforatum.* Zwei Embryosäcke, einer zwei-, der andere vierkernig, übereinander. (Zeichnung aus mehreren Serienschnitten kombiniert.)

Fig. 11 *a b*. *Hypericum maculatum.* Zwei benachbarte Schnitte durch denselben Embryosack, der abnormerweise zwei Embryosäcke enthält.

Fig. 12. *Hypericum maculatum.* Junger achtzelliger Embryosack.

Fig. 13. » » Etwas früheres Stadium als Fig. 12. Polkerne gegen die Mitte zu wandernd.

Fig. 14. *Hypericum maculatum.* Junger Embryosack; Polkerne in der Mitte desselben aneinanderliegend.

Fig. 15. *Hypericum maculatum*. Samenanlage im Längsschnitt, etwas vor der Befruchtung.

Fig. 16. *Hypericum maculatum*. Oberer Teil der Samenanlage, den Verlauf des Pollenschlauches zeigend.

Fig. 17 *a b*. *Hypericum maculatum*. Aus benachbarten Schnitten derselben Serie. *a* zeigt die Eizelle nach der Vereinigung mit einem Spermakern, *b* die Verschmelzung eines Spermakernes mit dem Verschmelzungsprodukt der beiden Polkerne.

Fig. 18. *Hypericum maculatum*. Oberer Teil eines Embryosackes mit befruchteter Eizelle und zwei Endospermkernen.

Tafel III.

Fig. 19. *Hypericum maculatum*. Embryosack mit zwei Endospermkernen in Teilung; untere Teilungsfigur nur teilweise im Schnitte liegend.

Fig. 20 *a* bis *d*. *Hypericum maculatum*. Aus vier benachbarten Schnitten derselben Serie, einen befruchteten Embryosack mit vier Endospermkernen zeigend.

Fig. 21. *Hypericum maculatum*. Samenanlage mit dreizelligem Embryo.

Fig. 22. *Hypericum maculatum*. Oberer und unterer Teil des Embryosackes aus einer ungefähr gleich alten Samenanlage wie die vorige Figur.

Fig. 23. *Hypericum maculatum*. Oberer Teil einer Samenanlage mit zwei Embryonen.

Fig. 24. *Hypericum maculatum*. Zweizelliger Embryo und links von diesem eine Zelle (Eizelle?).

Fig. 25. *Hypericum maculatum*. Oberer Teil einer Samenanlage mit bereits angelegter Samenschale und Embryo (Bei mittlerer Vergrößerung).

Fig. 26. *Hypericum maculatum*. Unterer Teil einer Samenanlage gleichen Stadiums wie Fig. 25 mit »antipodialem Endosperm«.

Tafel IV.

Fig. 27. *Hypericum maculatum*. Junge Samenschale, aus drei Schichten *a*, *b*, *c* bestehend; der innersten *c* liegen Reste aus dem resorbierten Teile des inneren Integuments an.

Fig. 28. *Hypericum maculatum*. Die drei Schichten der Samenschale *a*, *b*, *c*, in tangentialen Schnitten gesehen.

Fig. 29. *Hypericum maculatum*. Große Kerne aus einem antipodialen Endosperm.

Fig. 30. *Hypericum maculatum*. Antipodiales Endosperm mit degenerierenden Kernen.

Fig. 31. *Hypericum maculatum*. Endospermzellen aus einer Samenanlage mit sehr großem Embryo.

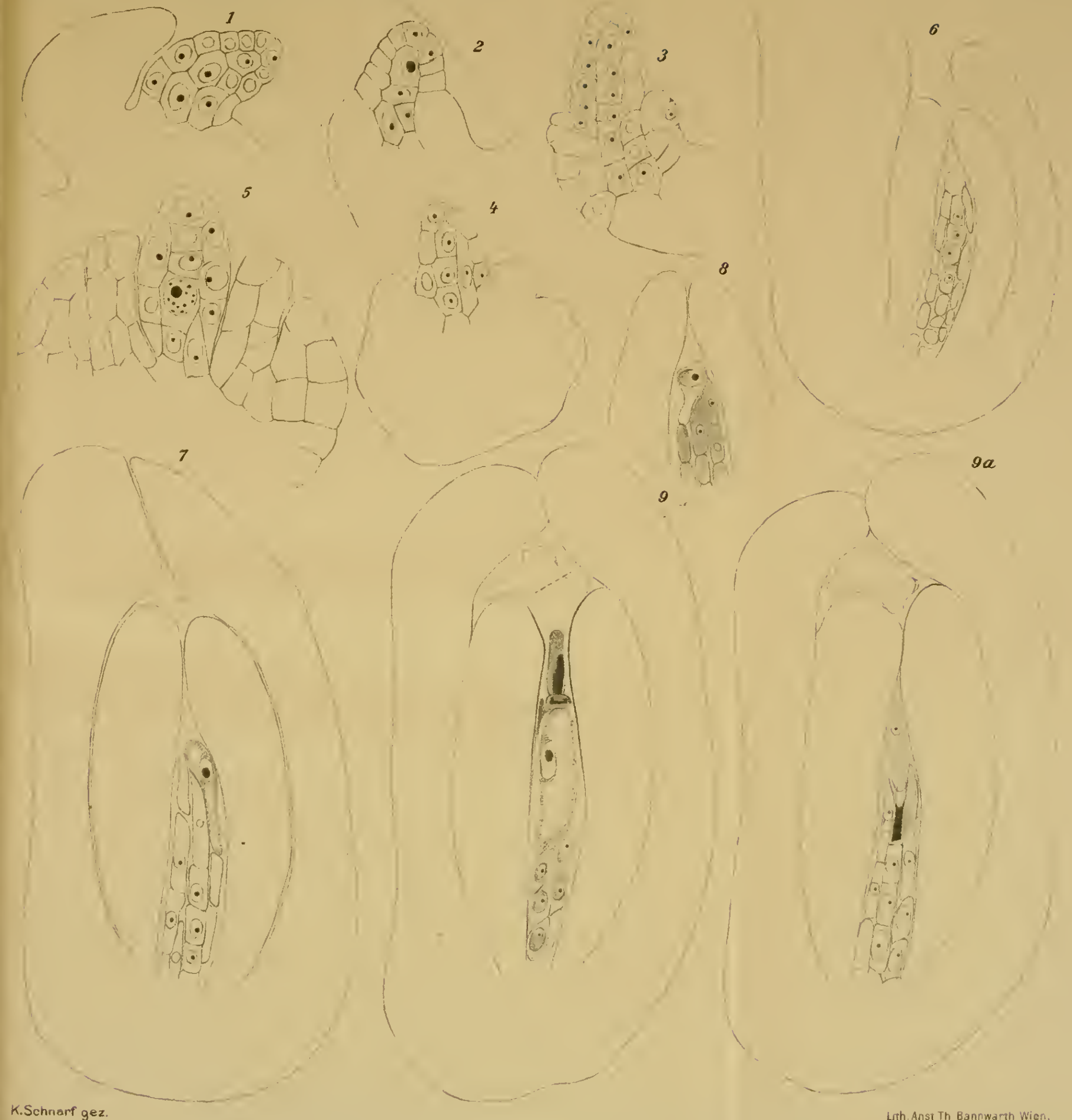
Fig. 32. *Hypericum maculatum*. Reifer Same bei schwacher Vergrößerung (etwas schematisiert).

Fig. 33. *Hypericum maculatum*. Teil von Fig. 32, sehr stark vergrößert.

In den Figuren verwendete Abkürzungen.

ä. i. äußeres Integument.
i. i. inneres Integument.
e Eizelle.
s Synergide.
e + s Eiapparat.
ant Antipoden.
nuc Nucellus oder Nucellarrest.
pk Polkern.
(*pk*) sekundärer Embryosackkern.
ps Pollenschlauch.
end Endosperm.
em Embryo.
a, b, c Schichten der reifen Samenschale.





K. Schnarf gez.

Lith. Anst. Th. Bannwarth, Wien.

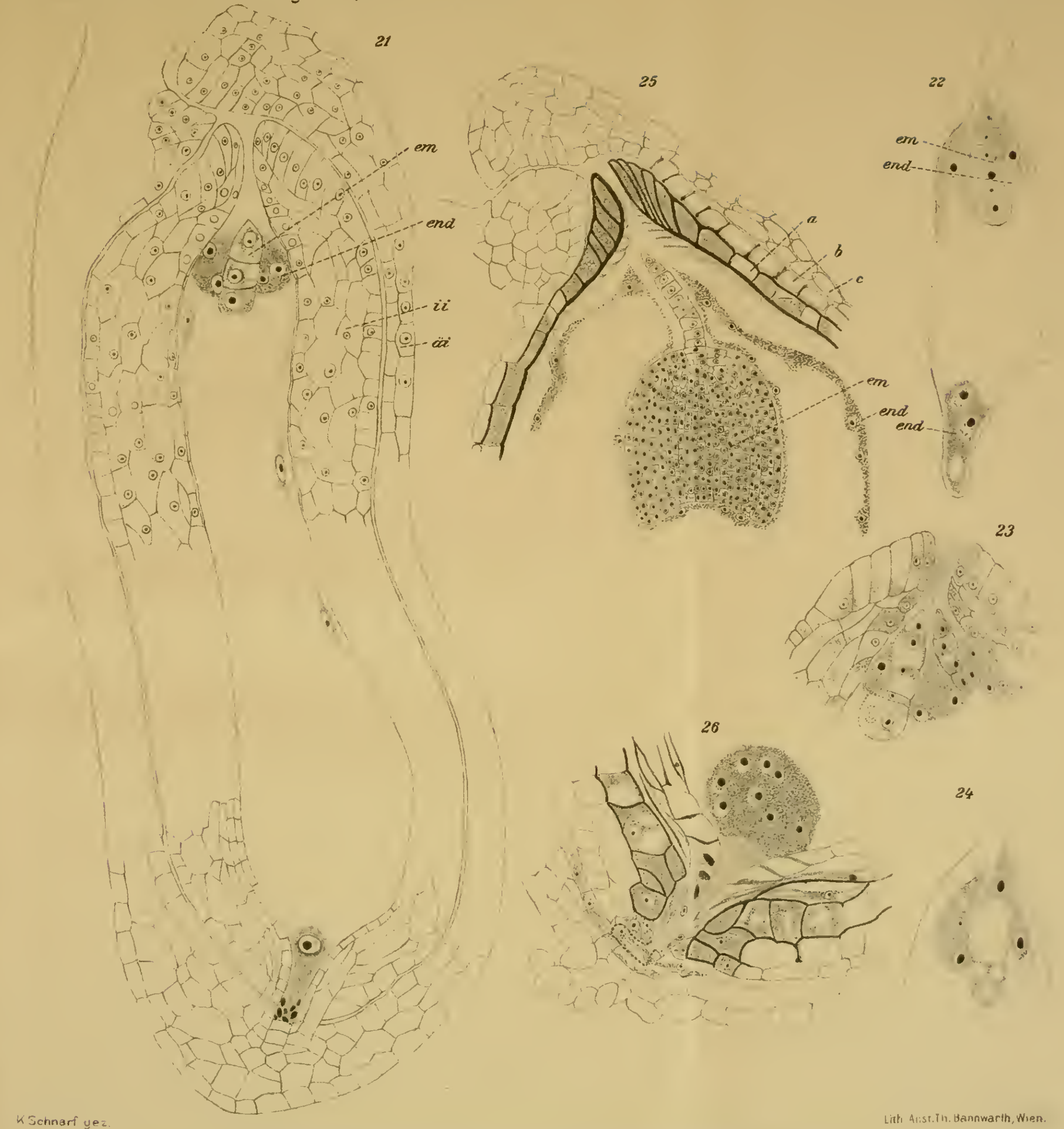




K. Schnarf gez.

Lith. Anst. Th. Bannwarth, Wien

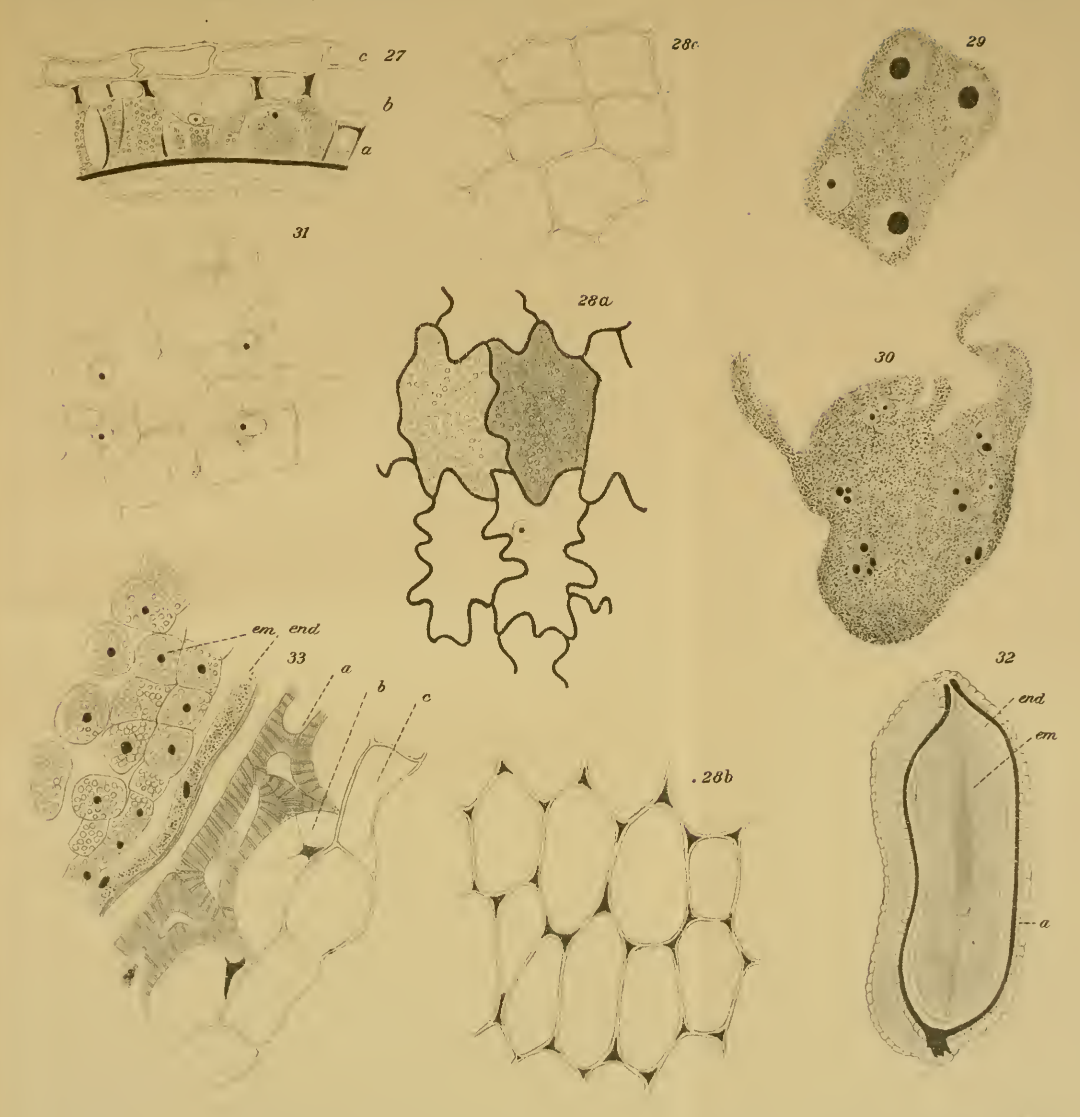




K. Schnarf gez.

Lith. Anst. Th. Bannwarth, Wien.





K. Schnarf gez.

Lith. Anst. Th. Bannwarth Wien